UNIVERSITÉ DE TOULOUSE
FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE
ANNÉE 1969 — THÈSE N° 103

RECHERCHE DES CELLULES CARCINOMATEUSES DANS LES LIQUIDES D'ASCITE

THÈSE

POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE
PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT
LE 26 JUIN 1969 PAR

MADAME GENEVIÈVE TRUNYO-GARNACHE

MEMBRES DU JURY : Professeur BIMES, Président.

Professeur MARQUÈS,
Professeur POULHÈS,
Professeur MONTASTRUC, } Assesseurs.

Professeur GUILHEM, Suppléant.

IMPRIMERIE LACRAMPE et Cie — LOURDES
— JUIN 1969 —

TABLEAU DU PERSONNEL

Doyen : Monsieur LAZORTHES ;
Premier Assesseur : Monsieur BREUILLAUD ;
Deuxième Assesseur : Monsieur MONNIER ;
Professeurs Honoraires : MM. VALLOIS, TAPIE DELAS, RISER, BUGNARD, VINCENT, MOREL, BOUISSET, CALMETTES, THOMAS.

SECTION MÉDECINE

Clinique médicale et cardiologique : M. MERIEL ;
Clinique médicale Sud : M. GADRAT ;
Clinique chirurgicale : M. LAGROT;
Clinique chirurgicale et gynécologique : M. FABRE Pierre ;
Clinique chirurgicale et du cancer : M. GRIMOUD ;
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie : M. PASQUIE ;
Clinique chirurgicale orthopédique et traumatologique : M. RIEUNAU ;
Clinique de chirurgie cardio-vasculaire : M. ENJALBERT ;
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques : M. BAZEX ;
Clinique des maladies des voies urinaires : M. LHEZ ;
Clinique des maladies infectieuses : M. ANDRIEU ;
Clinique médicale infantile et puériculture : M. SOREL ;
Clinique médicale de la première enfance : M. BARDIER ;
Clinique de neuro-chirurgie : M. LAZORTHES ;
Clinique neurologique et psychiatrique : M. GERAUD ;
Clinique obstétricale : M. PONTONNIER ;
Clinique odonto-stomatologique : M. CADENAT ;
Clinique ophtalmologique : M. N...
Clinique O.R.L. et chirurgie maxillo-faciale : M. CALVET ;
Clinique de pneumo-phtisiologie : M. DELAUDE ;
Clinique rhumatologique : M. RUFFIÉ René ;
Accouchement et obstétricie sociale: M. JAHIER ;
Anatomie : M. N... ;
Anatomie appliquée : M. POULHES ;
Anatomie pathologique : M. FABRE Jacques ;
Bactériologie et virologie : Mme ENJALBERT ;
Biophysique médicale A : M. AUVERGNAT ;
Biophysique médicale B : M. BRU;
Chimie biologique : M. VALDIGUIE Paul ;
Electro-radiologie : M. MARQUES;
Embryologie générale : M. BROUSSY Jean ;
Hématologie : M. RUFFIE Jacques;
Histologie : M. BIMES ;
Hydrologie thérapeutique et climatologie : M. DARNAUD ;
Hygiène et médecine sociale : M. MONNIER ;
Immunologie : M. DUCOS ;
Médecine légale et médecine du travail : M. PLANQUES ;
Pathologie chirurgicale : M. DAMBRIN ;
Pathologie générale et médecine expérimentale : M. SENDRAIL ;
Pathologie médicale : M. RIBAUT ;
Physiologie : M. LAPORTE Yves ;
Physiologie appliquée et pharmacologie : M. BAISSET ;
Sémiologie et clinique médicale : M. LAPORTE Jacques ;
Thérapeutique : M. DARDENNE.

PROFESSEURS A TITRE PERSONNEL :

Anatomie pathologique : M. BOUISSOU ;
Biochimie médicale : M. DOUSTE-BLAZY ;
Histologie et embryologie : M. PLANEL ;
Maladies infectieuses : M. ARMENGAUD ;
Oto-Rhino-Laryngologie: M. CLAUX
Pathologie médicale: M. BOULARD
Physiologie : M. MONTASTRUC.

Suite page 3 de la couverture...

RECHERCHE

DES CELLULES CARCINOMATEUSES

DANS LES LIQUIDES D'ASCITE

UNIVERSITÉ DE TOULOUSE
FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE
ANNÉE 1969 — THÈSE N° 103

RECHERCHE DES CELLULES CARCINOMATEUSES DANS LES LIQUIDES D'ASCITE

THÈSE

POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT

LE 26 JUIN 1969 PAR

MADAME GENEVIÈVE TRUNYO-GARNACHE

MEMBRES DU JURY : Professeur BIMES, Président.

Professeur MARQUÈS,
Professeur POULHÈS,
Professeur MONTASTRUC,
} Assesseurs.

Professeur GUILHEM, Suppléant.

IMPRIMERIE LACRAMPE et Cie — LOURDES
— JUIN 1969 —

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

A MES PARENTS

A TOUS LES MIENS

A FABIENNE,

JEAN-MARC,

CÉCILE.

AGNÈS

A TOUS MES AMIS

en témoignage de mon affection

A NOTRE PRÉSIDENT DE THÈSE

Monsieur le Professeur BIMES

Professeur d'Histologie

Chef du Service d'anatomo-pathologie du Centre anti-cancéreux régional

Chevalier de la Légion d'Honneur

Vous m'avez fait le grand honneur d'accepter de présider cette thèse.

Nous voudrions vous exprimer ici notre respectueuse admiration.

A NOTRE JURY DE THÈSE :

Monsieur le Professeur MARQUÈS

Professeur d'Electro-Radiologie
Directeur du Centre anti-cancéreux Régional
Chevalier de la Légion d'Honneur

Veuillez trouver dans cet ouvrage l'expression de notre profond respect.

Monsieur le Professeur POULHÈS

Professeur d'anatomie appliquée
Chirurgien des Hôpitaux

En reconnaissance des années d'enseignement précieux que vous nous avez données et avec ma profonde gratitude.

Monsieur le Professeur MONTASTRUC

Professeur de physiologie

Vous avez accepté avec bienveillance de juger notre travail, soyez-en vivement remercié.

Monsieur le Professeur GUILHEM

Vous m'avez aidée et guidée dans mon travail.

Veuillez trouver ici, avec mes plus vifs remerciements, le témoignage de ma sincère gratitude.

A MES MAITRES DE LA FACULTÉ

ET DES HOPITAUX

A MESSIEURS

LES DOCTEURS COMBES ET CARTON

qui m'ont aidée de leurs conseils

AU PERSONNEL

DU LABORATOIRE D'HISTOLOGIE

A MESSIEURS LES MÉDECINS

ET CHIRURGIENS DE L'HOPITAL DE LOURDES

A MESSIEURS LES DOCTEURS

HEMMI et UEBERSCHLAG

DE L'HOPITAL PSYCHIATRIQUE DE PAU

Plan

I. — INTRODUCTION.

II. — HISTORIQUE.

III. — TRAVAUX PERSONNELS.

a) *MATÉRIEL ET TECHNIQUE.*
- — Prélèvement et Fixation.
- — Préparations cytologiques,
- — Préparations histologiques,
- — Coloration.
- — Examen microscopique.

b) *ÉVALUATION DE LA CYTOLOGIE.*

c) *INTERPRÉTATION PRATIQUE DE LA CLASSIFICATION.*

RÉSULTATS.

CYTOLOGIE GÉNÉRALE DES LIQUIDES.
1. — Cellules non cancéreuses.
2. — Cellules carcinomateuses.

CYTOLOGIE PARTICULIÈRE DES LIQUIDES.

IV. — DISCUSSION.
1°. — Valeur du Cyto-diagnostic.
2° — Intérêt du Cyto-diagnostic sur liquide d'ascite.

V. — CONCLUSION.

I

Introduction

L'accumulation de liquide dans la cavité péritonéale, ou ascite, est un phénomène fréquent en pathologie.

Dans certains cas, s'il s'agit par exemple d'une insuffisance cardiaque, rénale ou hépatique, le contexte clinique suffit à expliquer l'origine de cet épanchement.

Mais il est d'autres cas, nombreux, et ce sont eux qui nous retiendront, où la clinique est incertaine et la cause non évidente.

L'examen biologique est ici fondamental. Il est actuellement bien codifié. Plusieurs méthodes existent qui ont été plus ou moins modifiées :

Etalement du culot et colorations diverses.

Collecte des cellules sur filtre millipore.

Technique de la fluorescence sur frottis.

Nous exposerons plus loin notre technique, dérivée de la méthode classique.

Suspicion d'un processus cancéreux, quel en est le point de départ ?

Nous verrons comment le cyto-diagnostic, interprété par des cytologistes entraînés peut résoudre ces problèmes.

II

Historique

L'étude cytologique des liquides d'ascite et des épanchements pleuraux est relativement ancienne. En effet, les premières publications concernant ce problème remontent à la fin du siècle dernier.

Les premiers travaux sont publiés par :

— Quinke en 1875.

— Ehrlich en 1882.

— Bahrenberg en 1896.

— Widal en 1901 publie une courte communication sur l'étude des épanchements pleuraux , en 1928, ce même auteur est un des premiers à pratiquer une étude cytologique détaillée des cellules malignes observées dans les épanchements.

La même année, en 1928, Quensel établit les critères des cellules tumorales et précise les différences de ces éléments avec les cellules mésothéliales desquamées de la séreuse.

Sa méthode de coloration vitale consiste à ajouter, au culot de centrifugation, quelques gouttes de la solution de

Quensel. Cette dernière renferme : du bleu de méthylène - cadium et soudan - et cadium. Après mélange par agitation douce, quelques gouttes sont déposées sur une lame et recouvertes par une lamelle. Cette méthode colore les noyaux en bleu pâle et permet une identification très facile des nucléoles.

— SAPHIR en 1949, utilisant une méthode histologique, conclue à la supériorité de cette technique sur la méthode cytologique.

— SATTENSPIEL en 1949 apporte sa contribution à l'étude des liquides d'épanchements.

— HINSELMAN en 1951 s'attache à décrire les caractères cytologiques des cellules rondes mobilisées et les rattache à des éléments de type petits monocluéaires et grands monocluéaires.

— FOOT : 1954-1956 publie ses résultats portant sur 2.029 cas.

— CARDOZO en 1954,

— et SPRIGGS en 1957 obtiennent de bons résultats en utilisant la coloration de MAY-GRÜNWALD-GIEMSA sur des frottis de culots de centrifugation.

— PAGÈS en 1958 publie des résultats sur le cytodiagnostic dans les épanchements des séreuses. L'étude de 176 frottis permet de souligner les difficultés de cette cytologie, en particulier pour interpréter certaines images réalisées par les cellules mésothéliales.

A partir des dix dernières années, impulsion grâce à PAPANICOLAOU et à sa technique de coloration qui consiste à

étaler sur une lame, enduite de glycérine au blanc d'œuf, le culot de centrifugation ; après fixation dans l'alcool-éther pendant trente minutes minimum, les lames sont colorées successivement par l'hématoxyline de HARRYS 046 et EA 36.

— VIGNEAU, en 1960 dans sa thèse, publie ses résultats portant sur 56 cas d'ascites dont 24 cancéreux.

Pour cet auteur, seule la mitose atypique est pathogromonique de malignié.

— SABBIONNI en 1960, signale dans une publication, la présence de cellules carcinomateuses dans 39.3 % des ascites examinées.

Cet auteur préfère l'inclusion du culot de centrifugation suivie d'une technique histologique classique par coupes.

— NAYLOR et SCHMIDT en 1964, publient leurs résultats portant sur 935 épanchements.

WRIGLEY en 1964, utilise la technique de fluorescence. Il souligne l'importance de cette méthode pour la mise en évidence des cellules malignes des épanchements ascitiques et pleuraux en lumière ultra-violette.

CEELEN, en 1964 expose les différentes méthodes qu'il a utilisées. Sa préférence va à l'inclusion à la paraffine du culot de centrifugation. Pour cet auteur, cette méthode fournit les résultats les plus valables.

SMOLKA et ABRAHAMSEN, en 1965, à la clinique gynécologique de l'Université de Kiel, obtiennent sur 114 cas les résultats cytologiques suivants :

Pour 93 cancers :

76 P 5 soit 81,7 % :

8 P 3 soit 8,6 % .

9 P 2 soit 9,7 %.

Pour 16 cas non malins, le cyto-diagnostic s'est avéré 16 fois négatif, soit 100 %.

Smolka et Soost, en 1965 dans un traité de cyto-diagnostic en gynécologie précisent des résultats sur liquides d'ascite avec 81,7 % de cas positifs, et 84,4 % de diagnostics exacts.

— De Brux et Coll en 1968, pratiquent l'examen de liquide péritonéal prélevé au cours d'une cœlioscopie ou par ponction du cul de sac de Douglas.

— De même Floyd et ses collaborateurs publient 33 cas d'étude cytologique par lavage des culs de sacs péritonéaux.

— Burrows, Carpentier et Warren, en 1968 utilisent une technique de concentration par filtration en tube de centrifugation. Par cette méthode les cellules se déposent sur couche et permettent ainsi une lecture plus facile.

III

Travaux personnels

a) Matériel et Technique

PRÉLÈVEMENT ET FIXATION :

Le liquide est prélevé par ponction transpariétale de l'abdomen au trocart. Après aspiration à la seringue, ce liquide recueilli a été traité selon plusieurs techniques.

— dans la majorité des cas, 1 cm3 de formol commercial a été ajouté à 10 cm3 de liquide prélevé en vue d'une fixation immédiate.

— pour un nombre réduit de prélèvements effectués dans les services du C. R. A. C. de Toulouse une centrifugation immédiate a pu être effectuée. Il a été alors possible de pratiquer un étalement immédiat sur lame du culot frais et une fixation à l'alcool éther.

— pour de rares prélèvements, particulièrement riches en albumine, il a été ajouté du citrate de sodium ou de l'héparine.

PRÉPARATIONS CYTOLOGIQUES :

Deux méthodes ont été utilisées :

1° Le liquide était abondant et a pu être centrifugé avec obtention d'un culot conséquent. Après décantation du liquide surnageant, le culot est aspiré à la pipette de fin diamètre et rejeté sur une lame recouverte d'un film d'albumine de blanc d'œuf. La lame est immergée dans *les secondes* qui suivent l'étalement dans un mélange d'alcool à 95° - éther sulfurique à parties égales.

2° La quantité de liquide était faible. Dans ce cas le prélèvement a été traité selon la technique de filtration sur millipore.

Nous avons utilisé les filtres SM WPO 190 R de forme rectangulaire de 19 $^{m}/^{m}$ sur 42 $^{m}/^{m}$ interposés entre un support filtre de verre fritté et un Buchner en acier inoxydable maintenus au contact par une pince de serrage à ressort. La filtration a été effectuée sous vide par branchement d'une pompe.

Les cellules collectées sur le filtre ont été fixées *in situ* par l'acool absolu.

PRÉPARATIONS HISTOLOGIQUES :

Dans plusieurs cas le culot était d'une abondance telle que nous avons coagulé ce dernier dans le tube de centrifugation par l'adjonction d'acétone. Le culot durci, a été déshydraté par plusieurs bains successifs d'acétone, puis mis à l'étuve à paraffine pendant 18 heures et inclus.

Des coupes sériées ont été pratiquées au microtome de type Minot à 7 microns d'épaisseur. Les coupes ont été étalées sur lame recouverte d'un film d'albumine de blanc d'œuf.

COLORATION :

Nous avons utilisé pendant de nombreuses années la technique de PAPANICOLAOU ; la coloration des noyaux est obtenue par l'hématoxyline de Harris suivie d'une différenciation à l'eau chlorydryque à 0,5 %. Les cytoplasmes sont colorés par des bains des solutions alcooliques successives d'OG 6 et d'EA 36.

Nous avons abandonné cette technique pour une coloration modifiée qui fournit des teintes plus pâles et qui est utilisable à la fois pour les frottis et pour les coupes à paraffine. Les colorations, pour 50 % des cas, ont été effectuées automatiquement au moyen du Shandon Elliott à 24 bacs.

* *Colorants nucléaires :* Hemalun acide deMayer.

On dissout :

— Hématoxyline .... 1 gr.
dans eau distillée .. 500 cc à chaud
sans bouillir.

ajouter alun de Potassium. .... 50 gr.
laisser refroidir complètement.

On ajoute la solution suivante préparée à l'avance :

Iodate de Sodium .... 0,20 gr.

Eau distillée. .... 50 cc.

Puis on ajoute la solution suivante, elle-même préparée à l'avance :

— Hydrate de Chloral. .... 50 gr.
— Acide citrique .... 1 gr.
— Eau distillée .... 450 cc.

La solution doit être filtrée au bout d'une heure. Elle fournit une coloration nucléaire absolument constante, sans différenciation. Elle est la plus durable des colorations nucléaires.

* *Colorants cytoplasmiques*

Il s'agit d'un dérivé du colorant de Shorr.

Mélanger successivement :

— Alcool à 50° .... 200 cc.
— Ecarlate Biebrich. ..... 0,5 gr.
— Orange G. .... 0,5 gr.
— Vert de méthyle. ..... 0,5 gr.
— Acide phosphotungstique. 0,5 gr.
— Acide phosphomolybdique. 0,5 gr.
— Acide acétique. .... 1 cc.

La technique proprement dite est simple :

— Les frottis fixés à l'alcool éther ou les coupes après déparaffinage sont amenés à l'eau courante puis à l'eau distillée et soigneusement lavés.

— Coloration à l'hémalun de Mayer pendant 4 minutes.

— Laver à l'eau courante pendant 5 minutes puis plonger dans l'eau courante renfermant une pincée de carbonate de lithium en vue de bleuir les noyaux.

— Laver à l'eau courante.

— Colorer dans le complexe pendant 2 minutes.

— Rincer à l'eau courante.

— Passer par les alcools à 70° - 90° - 100° - 100° - xylol - xylol, puis monter au baume.

Cette méthode est donc pratiquée car elle est automatique et ne donne jamais de surcoloration. Elle ne nécessite pas de différenciation après le temps de coloration nucléaire

EXAMEN MICROSCOPIQUE :

Les lames ont été examinées tout d'abord à un faible grossissement de l'ordre de 100 diamètres.

Il est possible ainsi d'avoir une première opinion sur la cytologie générale du liquide et de repérer les amas ou les placards de cellules.

Après repérage, les zones particulières sont examinées à un fort grossissement de 400 à 600 diamètres.

b) Evaluation de la Cytologie

Nous utilisons la classification de PAPANICOLAOU et TRANT (1943). Elle permet de distinguer 5 classes. Le chiffre est précédé de la lettre P en hommage à l'auteur dont les travaux représentent la base du cyto-diagnostic.

Classe P 1 : *Absence de cellule suspecte. Les frottis renferment exclusivement des cellules normales. Il est donc logique d'admettre qu'un liquide d'épanchement ne peut répondre à cette classe.*

Classe P 2 : *Absence de cellule cancéreuse. Le liquide renferme donc des cellules authentiquement bénignes (hématies, leucocytes, cellules mésothéliales).*

Classe P 3 : *Résultat douteux. Le prélèvement renferme des cellules anormales avec des atypies structurales qu'on ne peut classer comme bénignes ou malignes.*

Classe P 4 : *Présence de cellules cancéreuses caractéristiques mais rares.*

Classe P 5 : *Présence de nombreuses cellules cancéreuses typiques.*

c) Interprétation pratique de la classification

— La classe P 2 permet d'avancer qu'il n'existe pas de processus cancéreux sous les conditions suivantes :

* Le processus tumoral, s'il existe, doit être en relation directe avec la cavité péritonéale dans laquelle il pourra desquamer des cellules. C'est ainsi que dans de nombreux cas une métastase hépatique d'un carcinome ou une compression de la veine cave peuvent entraîner une ascite importante qui ne renfermera pas de cellule carcinomateuse.

* La fixation du liquide doit être immédiate sous peine d'une cytolyse plus ou moins avancée, aboutissant à l'apparition d'altérations structurales pouvant prêter à confusion et aboutir soit à un faux positif soit à un faux négatif.

— La classe P 3 correspond à un résultat douteux. Cette incertitude relève de plusieurs causes :

* L'inexpérience du cytologiste qui n'arrive pas à prendre parti. Le nombre des classes P 3 diminue avec les ans au fur et à mesure de l'entraînement du lecteur et de sa compétence.

* Le défaut de technique du prélèvement parfois minime et non fixé.

* L'absence de renseignements cliniques précis. En effet ces derniers peuvent orienter le diagnostic plus particulièrement dans les cas où le prélèvement ne renferme que quelques très rares cellules incomplètement dysplasiques.

— Les classes P 4 et P 5 répondent à la présence de cellules de type cancéreux. Dans le cas de la cytologie des liquides d'ascite le diagnostic de cancer est pratiquement acquis d'une façon définitive. Bien entendu le résultat positif doit venir étayer une présomption clinique de cancer. Relativement rares sont les cas où une classe P 5 sur liquide d'ascite correspond à la découverte fortuite d'un carcinome totalement insoupçonné.

Nous reviendrons sur ce problème mais il faut souligner déjà la valeur d'une classe P 4 ou P 5 fournie par un cytologiste compétent. Cette donnée s'oppose à la valeur toute relative des classes P 2.

En effet, alors que les diagnostics cytologiques faussement positifs ne représentent que 1,3 %, les diagnostics faussement négatifs atteignent 13,9 % dans nos statistiques.

Résultats

Notre étude a porté sur 365 liquides d'ascite provenant de malades différents. La lecture des cytologies fournit les résultats suivants :

— Classe P 2	128
— Classe P 3	2
— Classe P 4	54
— Classe P 5	181
Total ..... :	365

Le contexte clinique, l'évolution et les contrôles histologiques effectués ont permis de préciser les concordances suivante :

* Sur les 128 classe P 2, 77 correspondaient bien à un processus bénin. Pour les 51 cas, il s'agissait par contre d'un processus cancéreux certain.

* Les 2 classe P 3, pour lesquels les liquides ne renfermaient que de très rares éléments cellulaires isolés, correspondaient à un adénocarcinome pancréatique et à un adénocarcinome de l'endomètre.

* Pour les 235, classes P 4 et P 5, 230 répondaient à un processus cancéreux certain. Par contre dans 5 cas une étiologie carcinomateuse n'a jamais pu être démontrée.

Nous pouvons donc établir le tableau des résultats cytologiques et de leurs concordances :

	Nombre de cas	Pourcentage
Classe P 2 correspondant à une bénénignité certaine	77	21. 0
Classe P 3 correspondant à un processus cancéreux certain	5	0. 5
Classe P 4 et P 5 correspondant à un processus cancéreux certain.	230	63. 0
Classe P 2 faussement négatif.	51	13. 9
Classe P 4 et P 5 faussement positif.	2	1. 3
Total	365	99, 7

Si nous détaillons la concordance des diagnostics cytologiques avec les lésions bénignes ou malignes pour lesquelles une certitude clinique ou histologique a pu être établie nous aboutissons à la répartition suivante :

* *Classe P 2 : 77 cas.*

Dans 60 cas l'ascite était en relation avec une cirrhose du foie, dans la grosse majorité des cas d'origine éthylique.

Dans 2 cas, chez des sujets jeunes, il s'agissait d'une péritonite tuberculeuse.

Dans 1 cas l'ascite était liée à une phlébite de la veine porte.

Les autres prélèvements provenaient de malades présentant une hypertension dans le domaine de la veine porte en relation avec une insuffisance soit cardiaque soit pulmonaire.

CLASSE P 3 : 2 cas.

L'un répondait à un adéno-carcinome de l'endomètre, l'autre à un adéno-carcinome du pancréas exocrine.

CLASSE P 4 et P 5 : 230 cas

Ils se répartissent de la manière suivante :

Leucémie lymphoïde 3
Lympho-sarcome-lymphoblastique 2
Réticulo-sarcome 5
Sarcome fibroblastique 4
Leio-myo-sarcome 1
Lympho-granulomatose maligne 5

*
* *

Carcinome de la parotide 2
Adéno-carcinome de l'estomac 18
Adéno-carcinome intestinal 12
Epithélioma epidermoïde de l'amygdale et de la langue. 3
Epithélioma épidermoïde de l'œsophage 5
Epithélioma glandulaire du pancréas exocrine. 2
Hépatome malin 2

*
* *

Carcinome de l'ovaire 56
avec 1 tumeur maligne de la granulosa
avec 2 mésonéphromes

Adéno-carcinome de la trompe 2
Adéno-carcinome de l'endomètre 9
Epithélioma épidermoïde du col utérin 18
Epithélioma glandulaire mammaire 38

***

Cancer du rein 6
Cancer de la prostate 7

***

Epithélioma malpigien cutané 4
Nævo-carcinome. 9

***

Mésothéliome péritonéal 2

***

Carcinose péritonéale à point de départ non précisé. 15

Total 230

CLASSE P 2 : résultats faux négatifs le malade étant atteint d'un carcinome : 51 cas.

Ils se répartissent de la façon suivante :

Réticulo-sarcome. 1
Lympho-sarcome-lymphoblastique . 2
Sarcome fibroblastique 1
Lympho-granulomatose maligne 1
Leucémie myéloïde 2

***

Epithélioma de l'amygdale 2
Epithélioma du sinus piriforme 2

Adéno-carcinome de l'estomac. 3
Adéno-carcinome du cœcum. 1

⁂

Carcinome de l'ovaire.. 12
Adéno-carcinome de l'endomètre .. 2
Adéno-carcinome endo-cervical. 1
Epithélioma épidermoïde du col. .. 2
Epithélioma glandulaire mammaire .. 9

⁂

Cancer du rein 1

⁂

Epithélioma baso-cellulaire de la face 1
Nævo-carcinome. 3

⁂

Métastase hépatique d'un cancer primitif non précisé. 5

CLASSE P 4 et P 5 résultats faux positifs correspondant à des malades indemnes de processus carcinomateux : 5 cas.

Il s'agit de :

* Dans 1 cas, une réaction péritonéale en relation avec une pancréatite aiguë.

* Dans 2 cas, une ascite en relation avec une cirrhose d'origine éthylique.

* Dans 2 cas, une ascite d'origine mécanique représentant un épiphénomène au cours d'un anasarque cardiaque.

Un contrôle des lames à posteriori, devant la non-concordance entre d'une part le diagnostic clinique et l'évolution et d'autre part le diagnostic cytologique, a permis de préciser la nature des cellules prises à tort pour des éléments carcinomateux.

Il s'agissait d'éléments mésothéliaux de type histiocytaire macrophagique présentant des altérations structurales marquées mais indubitablement insuffisantes, après examen attentif, pour répondre à une classe P 4 ou P 5.

Cytologie générale des liquides

1) Cellules non cancéreuses

La cytologie très variable souvent polymorphe, peut renfermer les éléments suivants :

a) *ERYTHROCYTES* :

De forme classique, en disque biconcave de 7 microns de diamètre, ils conservent rarement leur forme idéale.

Le plus souvent, ils présentent un certain gonflement avec hémolyse plus ou moins avancée.

b) *POLYNUCLÉAIRES NEUTROPHILES* :

Nous les avons observés, en nombre variable, d'une façon pratiquement constante en particulier dans les ascites riches en cellules carcinomateuses.

Leur diamètre oscille entre 17 et 29 microns et s'avère supérieur à celui des polynucléaires du sang circulant.

Le noyau est segmenté et présente une tendance vers le type à 6 lobes.

Le cytoplasme est rosé, d'aspect finement granuleux malgré une chromophobie des granulation à la coloration de PAPANICOLAOU.

Ces polynucléaires ne se présentent pratiquement jamais en amas agglomérés mais d'une façon dispersées dans les frottis.

c) *POLYNUCLÉAIRES ÉOSINOPHILES* :

Leur diamètre oscille entre 20 et 25 microns. Ils possèdent un noyau bilobé. Avec la technique de PAPANICOLAOU, leurs volumineuses granulations spécifiques, de forme sphérique, se colorent en rouge vif. Elles occupent la totalité du cytoplasme.

L'identification des polynucléaires éosinophiles est très aisée. Nous les avons rencontrés d'une façon générale en nombre réduit. Dans de rares cas ils représentaient sans que nous puissions établir une relation avec le processus en cours, la grosse majorité des leucocytes du liquide d'ascite.

d) *POLYNUCLÉAIRES BASOPHILES* :

Dans certains cas nous avons recherché leur présence par la mise en évidence de la métachromasie de leurs granulations au bleu de Tolnidine. Nous n'avons pu retrouver qu'exceptionnellement ces polynucléaires basophiles.

e) *LYMPHOCYTES* :

Ces éléments, d'un diamètre réduit allant de 8 à 12 microns, ont été observés dans tous les liquides examinés. Leur cytoplasme est réduit, de basophilie variable sans inclusion visible. Leur noyau très chromophile possède une charge chromatinienne importante sous forme de blocs compacts avec tendance à l'homogénéisation.

Ils se répartissent isolément dans les frottis et ne s'agglomèrent pratiquement jamais.

Dans certains prélèvements, ils sont majoritaires. Parfois ils représentent la seule catégorie de cellules observées dans le liquide.

f) *HISTIOCYTES ET CELLULES MÉSOTHÉLIALES :*

Il s'agit de cellules de diamètre très variable allant de 20 microns à 100 microns. De forme globuleuse arrondie elles peuvent être mono ou plurinucléées. Le noyau est pauvre en chromatine qui est disposée en fin réseau avec quelques blocs plus denses, isolés. Ces noyaux possèdent de 1 à 3 nucléoles plasmatiques.

Le cytoplasme, toujours abondant, présente une chromatophilie variable et une structure rarement homogène. Il renferme des vacuoles de diamètre et en nombres variables ainsi que des inclusions diverses.

Les vacuoles sont le plus souvent multiples. Lorsque leur nombre est important, le cytoplasme prend un aspect spumeux et évoque alors une cellule en voie de surcharge graisseuse.

Ces vacuoles de nature lipidique ou protéinique peuvent être accompagnées de granules pigmentaires le plus souvent de type hémosidérosique provenant de la désintégration des hématies lysées. Elles renferment parfois des particules correspondant à des débris cytoplasmiques ou nucléaires provenant d'autres cellules en particulier de polynucléaires.

Les réactions histochimiques effectuées sur des étalements fixés aux vapeurs osmiques ou au formol précisent la nature lipidique des inclusions dans 65 % des cas. Les réactions au Soudan III, IV et Soudan Noir sont négatives dans 25 % des cas. Il s'agit alors d'enclaves très faiblement posi-

tives aux réactions des protéines Dans les 10 % des cas restant les vacuoles intra-cytoplasmiques observées dans les cellules mésothéliales n'ont pu être colorées ni par les réactions des glucides, ni par celles des protéines et des lipides Il s'agit de vacuoles liquidiennes probablement de nature hydrique.

g) *PLASMOCYTES* :

Il s'agit d'éléments ovalaires de 10 à 16 microns de diamètre à noyau excentrique. La chromatine abondante disposée en petits blocs dessine d'une façon grossière les classiques rayons de roue. Le cytoplasme est dense à la périphérie, basophile après coloration selon la technique de PAPANICOLAOU. Il laisse subsister une plage claire au contact du noyau. Cette plage correspond à l'appareil de GOLGI.

Nous avons observé ces plasmocytes d'une façon très inconstante dans les épanchements d'ascite.

2) Cellules carcinomateuses

Les critères morphologiques de malignité sont identiques à ceux du cyto-diagnostic en général. Nous les rappellerons brièvement.

a) MODIFICATIONS NUCLÉAIRES :

VARIATION DE FORME ET DE TAILLE :

Les noyaux présentent des formes très variables. Ils peuvent être elliptiques, encochés, polylobés, en bulbe bourgeonnant. L'aspect fusiforme est rencontré, en particulier, dans les cancers de type épidermoïde.

La taille est le plus souvent augmentée et peut même aboutir au noyau gigantesque monstrueux. Alors que les noyaux des cellules mésothéliales montrent des variations de

diamètre allant du simple au double, les noyaux des cellules cancéreuses peuvent posséder, dans les cas les plus marqués, un diamètre quinze fois supérieur à celui d'une cellule normale.

Lorsque les cellules sont disposées en placards conglomérés, pour les éléments mésothéliaux, l'aspect général du groupe est régulier, les noyaux étant, à un faible grossissement, pratiquement identiques les uns aux autres.

Dans un amas de cellules carcinomateuses, l'anisonucléose est, dans la majorité des cas, très marquée et cette variabilité de diamètre donne un aspect caractéristique d'hétérogénéité des diamètres nucléaires Ainsi l'anisonucléose représente un des critères de la malignité.

MODIFICATION DU RAPPORT NUCLÉO-PLASMATIQUE :

La cellule carcinomateuse se caractérise le plus souvent par une augmentation du rapport N. P. En effet l'hypertrophie du noyau ne s'accompagne pas d'une augmentation proportionnelle du volume du cytoplasme.

Cette augmentation est un des caractères le plus constant et le plus valable de la malignité. Elle est d'autant plus marquée que le carcinome est moins différencié.

Il faut souligner l'importance de l'intégrité de la cellule et, en conséquence, l'obligation primordiale d'une excellente fixation.

En effet, la collecte de noyaux nus, même très suspects, dans un liquide d'ascite en voie de lyse, nécessitera une extrême prudence quant au diagnostic définitif.

Cette élévation du rapport nucléo-plasmatique représente, à nos yeux, un des critères les plus significatifs de la cellule cancéreuse.

MODIFICATION DE LA CHARGE ET DE LA RÉPARTITION DE LA CHROMATINE :

C'est le critère essentiel de malignité. Sans lui, le cytologiste n'a pas le droit de poser un diagnostic de cancer.

Dans un noyau de cellule normale et en particulier de cellule mésothéliale, la chromatine se présente sous la forme de granulés uniformes disposés régulièrement. Ces microblocs sont réunis par de fins filaments chromophiles. L'ensemble a un aspect de damier habituellement régulier

Dans un noyau de cellule cancéreuse existe une augmentation de la quantité globale de chromatine.

Le noyau est hyperchromatique, plus foncé que la normale. Ceci est dû à une augmentation de la charge chromatinienne qui, en outre, se répartit de façon anarchique. Elle apparaît sous la forme de blocs souvent volumineux, irréguliers, laissant de larges plages inoccupées et chromophobes. Ces mottes s'accolent souvent à la membrane nucléaire. Elles peuvent se réunir et donner au noyau un aspect très dense et opaque.

VARIATION DES NUCLÉOLES :

Dans une cellule normale et en particulier une cellule mésothéliale, le nucléole est de forme régulière rond ou ovalaire, de structure homogène en microscopie optique banale. On peut observer, comme nous l'avons déjà précisé, de un à trois nucléoles qui sont identiques entre eux quant à la taille et à la structure.

La cellule carcinomateuse renferme des nucléoles augmentés en taille et en nombre.

Le contour nucléolaire devient irrégulier avec des expansions plus ou moins importantes. Son contenu est souvent hétérogène avec apparition de petites vacuoles souvent multiples.

Très souvent la cellule cancéreuse renferme un nucléole unique mais géant occupant le tiers du volume du noyau. Sa limite périphérique très irrégulière est particulièrement différente de celle des cellules mésothéliales

Les modifications nucléolaires des cellules carcinomateuses représentent un critère de malignité constant et significatif. Pour notre part, elles permettent un diagnostic différenciel précis entre la cellule carcinomateuse quelle qu'elle soit et la cellule mésothéliale modifiée

FOOT a cherché à préciser le rapport entre le volume du nucléole et celui du noyau. Ce rapport est supérieur à 0,2 pour la cellule carcinomateuse.

Signalons que dès 1929, MAC CARTHY avait insisté sur la valeur des modifications nucléolaires en vue du diagnostic cytologique de malignité. De même GUTTMAN et HALPERN en 1935 avaient souligné l'intérêt des nucléoles volumineux, multiples et irréguliers pour l'identification des cellules cancéreuses.

PRÉSENCE DE MITOSES :

Ces dernières, contrairement aux conclusions de VIGNEAU, ne représentent pas, pour notre part, un caractère pathognomonique de malignité.

En effet, nous avons parfois observé des mitoses nombreuses dans des placards de cellules mésothéliales sans qu'il s'agisse d'un precessus cancéreux.

Pour VIGNEAU, la mitose atypique est une nécessité pour un diagnostic P 5. Nous nous rangeons à son avis si l'on découvre dans un placard une image de division cellulaire tri ou tétra-polaire. Mais cette constatation est vraiment exceptionnelle et ne représente pas pour nous un critère obligatoire.

b) MODIFICATION CYTOPLASMIQUE :

Aucune variation de la structure cytoplasmique n'est caractéristique de la cellule cancéreuse.

Le cytoplasme d'abondance variable est, pour les cellules mésothéliales, basophile.

Il devient acidophile dans les épithéliomas épidermoïdes métastatiques et s'il existe des modifications dysplasiques des noyaux, cette éosinophilie signe l'origine malpighienne des cellules cancéreuses.

La vacuolisation ne représente pas, elle non plus, un caractère significatif de la cellule carcinomateuse. Les cellules mésothéliales peuvent renfermer des vacuoles de taille et en nombre variables. Cependant l'énorme vacuole aboutissant à l'image en chaton de bague permet d'évoquer une origine épithéliomateuse mucoïde secrétante.

Il est certain, comme l'ont déjà signalé PIERSON et son école que l'histochimie est d'un secours parfois décisif. C'est ainsi que la réaction d'Hotchkiss Mac MANUS permet de mettre en évidence les enclaves mucoïdes de certaines cellules carcinomateuses d'origine digestive.

c) VARIATION DE FORME ET DE TAILLE DE LA CELLULE :

Dans les cellules normales desquamées, les variations de diamètre sont peu marquées et les rapports de taille vont de 1 à 4 même pour les cellules mésothéliales. Par contre, pour les cellules cancéreuses l'anisocytose est un excellent critère de cancer en particulier lors de mobilisation en placards.

En outre, les modifications de la forme des cellules peuvent être très marquées. Ce phénomène est d'autant plus net que le carcinome est plus différencié. En particulier lors de l'envahissement de la cavité par un épithélioma épidermoïde de type spino-cellulaire, on trouve deux formes bien définies décrites par PAPANICOLAOU :

— Les « spindle-shape cells » ou « fiber cells » qui correspondent à des cellules allongées à noyau étiré, hyperchromatique, à cytoplasme en fuseau, homogène, le plus souvent éosinophile.

Les « tadpole-cells » ou cellules en têtards sont des éléments à noyau volumineux, excentré, riche en chromatine. Le cytoplasme soit basophile, soit acidophile, se dispose en une couronne péri-nucléaire et se continue par une queue en flammèche plus ou moins allongée.

d) RÉPARTITION ET GROUPEMENT DES CELLULES :

Dans les liquides d'ascite les cellules carcinomateuses peuvent être dispersées. Cette répartition sous forme d'éléments isolés est constante dans les leucoses, dans les sarcomes ayant envahi la cavité péritonéale, dans les nævocarcinomes.

On observe, par contre, des placards d'étendue variable, dans toutes les autres formes Cette disposition en amas arrondis est constante dans les épithéliomas glandulaires.

Les amas peu étendus de cellules fusiformes s'observent dans les épithéliomas épidermoïdes.

Il arrive parfois que le prélèvement ne renferme que 2 à 3 amas de cellules carcinomateuses, d'où la nécessité d'un examen systématique de la totalité de la lame.

Signalons, enfin que à l'exception des maladies du système hémolymphoïde, les prélèvements riches en cellules cancéreuses renferment toujours des hématies.

e) FRÉQUENCE DES ANOMALIES STRUCTURALES DES CELLULES CANCEREUSES

Les cellules rencontrées dans les liquides d'ascite sont beaucoup plus difficiles à interpréter que dans les frottis vaginaux ou les expectorations. En effet, les cellules mésothiales présentant des altérations structurales importantes peuvent prêter à confusion.

Aucun des caractères cytologiques que nous venons de décrire, rencontré isolément, n'autorise une classe P 5. Seule la coexistence de plusieurs de ces anomalies sur une seule et même cellule permettra de porter le diagnostic de malignité.

C'est ainsi qu'il faudra que sur la même cellule, le cytologiste constate, en même temps :

— Une augmentation du rapport nucléo-plasmatique ;

— Une hyperchromaticité nucléaire correspondant à une augmentation de la charge chromatienne ;

— Une répartition anarchique de cette chromatine ;

— Une augmentation de diamètre du noyau ;

— Une hypertrophie des nucléoles qui deviennent multiples.

En outre, plusieurs cellules du même type devront présenter la presque totalité de ces anomalies.

Lorsque les cellules desquament en placards denses s'ajouteront l'anisonucléose et l'anisocytose. Il n'existe pas de processus pathologique qui puisse donner des modifications aussi marquées de taille du noyau et de la cellule. Malheureusement, dans les ascites carcinomateuses, certains cancers desquament des cellules avec modifications structurales nettement moins caractéristiques que celles précédemment décrites.

Ceci permet de comprendre que, en plus des raisons anatomiques expliquant les résultats faux négatifs, certains liquides restent classés P 2 bien qu'il s'agisse d'un processus carcinomateux authentique.

Cytologie particulière des liquides

Les cellules cancéreuses collectées dans les liquides d'ascite relèvent d'une double origine.

1° — Tumeur maligne primitive ou mésothéliome malin.

Cette tumeur rare présente une complexité structurale notable. Elle peut avoir :

a) Un *aspect adénoïde* sous forme de massifs cellulaires constituant des cordons ou des tubules prenant un aspect glanduliforme.

Les cellules présentent une vacuolisation cytoplasmique fréquente parfois sous forme d'une vacuole unique et volumineuse.

b) Le deuxième type répond à la forme dite *endo-épithéliale*. La tumeur est constituée par des fibres de réticuline disposées en plages ou en faisceaux. Les cellules sont fusiformes, globuleuses. Elles peuvent prendre en surface un aspect cubique ou cylindrique. Leur répartition régulière le long des fibres aboutit à l'élaboration de structures pseudo-glandulaires ou papillaires.

c) Le troisième type répond à la *forme conjonctive*. Elle est constituée par des cellules indifférenciées prenant le plus souvent un aspect fibroblastique ou réticulaire. La tumeur

peut être le siège d'une néogénèse vasculaire intense Elle peut alors être confondue avec une angiosarcome ou un périthélio-sarcome.

Ces trois formes épithéliales, sarcomateuses et mixtes peuvent être retrouvées dans la même tumeur qui présente donc une structure relativement polymorphe.

Pour les deux cas de mésothéliomes malins pleuraux connus qui ont donné lieu à un diagnostic cytologique sur liquide d'ascite, nous n'avons pu observer de critère cytologique caractéristique.

Pour NAYLOR, les cellules seraient très proches des cellules non malignes quant à la taille du cytoplasme et au diamètre du noyau.

Dans les 2 cas de notre statistique les dysplasies nucléaires étaient nettes et la classification en P 5 a été relativement facile. Ce n'est que la biopsie après laparotomie exploratrice qui a permis de poser le diagnostic de mésothéliome malin.

2° — Epanchements ascitiques métastatiques

a) *Cancer du sein*

Le liquide d'ascite renferme des hématies des leucocytes en nombre variable et des cellules mésothéliales parfois très nombreuses. Les cellules carcinomateuses sont, dans la majorité des cas, disposées en amas sphériques, très celluleux, formés d'éléments polyédriques à noyaux nettement dysplasiques. L'anysocytose est peu marquée, mais l'anysonucléose paraît presque toujours évidente. Exceptionnellement, les cellules métastatiques provenant d'un épithélioma mammaire, ont renfermé dans leur cytoplasme des vacuoles en nombre et en taille variables.

b) Cancer ovarien (56 cas)

L'envahissement de la cavité par un processus cancéreux répond donc dans un quart des cas à une tumeur primitive de l'ovaire.

Les cellules carcinomateuses desquament soit isolées soit en micro-placards. Leur diamètre est très variable et, dans ce milieu de culture que représente le liquide d'ascite, les noyaux montrent des dysplasies chromatiniennes et nucléolaires évidentes.

Dans les carcinomes muco-sécrétant nous avons observé, à côté de placards de cellules étroitement tassées les unes contre les autres, des cellules isolées présentant une vacuolisation d'importance variable. Cette dernière qui peut aller de la micro-vacuole unique à l'image en chaton de bague renferme une substance mucoïde colorable en rouge par la la réaction d'Hotchkiss Mac MANUS

c) Cancer prostatique (7 cas)

Les cellules observées dans le liquide d'ascite sont groupées en ilôts de contour général irrégulier. Le cytoplasme demeure clair. Il renferme un noyau présentant de discrètes dysplasies nucléaires. C'est certainement un des cancers les plus difficiles à diagnostiquer dans les liquides d'ascite.

d) Cancers de l'appareil digestif

Il n'est pas possible de préciser l'organe qui a été le point de départ du carcinome. Dans la majorité des cas les cellules trouvées dans le liquide d'ascite et provenant d'un cancer digestif présentent des caractères muco-secrétant. Leur cytoplasme renferme des vacuoles colorables par la réaction du P-A-S. Les images caractéristiques de cellules en

chaton de bague avec noyau dysplasique rejeté au bord de la cellule par une énorme vacuole occupant la presque totalité du cytoplasme ont répondu dans des cas P 5 a un épithelioma d'origine gastrique.

e) Cancers épidermoïdes et malpighiens différenciés

Les cellules desquamées présentent une structure caractéristique que nous envisageons dans un chapitre ultérieur.

f) Autres cancers

Les cellules provenant des séminomes ovariens, des tumeurs à cellules claires du rein, des leucémies lymphoïdes et des lymphogranulomatoses malignes ont présenté une structure pratiquement identique à celle observée au niveau des biopsies.

Le point de départ du carcinome primitif a pu presque toujours, être précisé.

IV

Discussion

1°) Valeur du cyto-diagnostic :

De très nombreux auteurs, au cours des 10 dernières années, ont publié les résultats obtenus sur l'étude des liquides d'épanchement des séreuses et certains ont étudié plus particulièrement les liquides d'ascite.

En 1955, Chandler FOOT présente une publication portant sur 2.029 cas.

Ces cas se répartissent de la façon suivante :

— 1.301 épanchements pleuraux ;

— 700 épanchements dans la cavité péritonéale ;

— 28 liquides collectés dans le péricarde ;

— 17 liquides intra-articulaires ;

— 3 hydrocèles vaginales.

Sur ces cas, il obtient :

— 610 classes P 4 et P 5 ;

— 82 faux positifs ;

451 cas ont été classés P 3. Il s'agit de cas douteux. Une étude ultérieure a permis de les classer de la façon suivante :

— 135 prélèvements provenaient de malades atteints d'un processus carcinomateux :

— 100 liquides ne correspondaient pas à un processus malin ;

— 238 n'ont pu être contrôlés ultérieurement.

Dans 968 cas, les liquides ont été dépourvus de cellules dysplasiques et correspondaient à des cas négatifs, c'est-à-dire des classes P 2.

Les cas positifs proviennent de la difficulté d'interprétation des cellules mésothéliales et des histiocytes. Ces éléments ont été observés plus particulièrement dans les cas d'insuffisance cardiaque aboutissant à la formation d'une ascite, et dans les cas de cirrhose hépatique aboutissant à la formation de liquide dans la cavité péritoniale.

Mason, de 1958 à 1961, a pratiqué l'examen de 80 liquides pleuraux. Il obtient les résultats suivants :

— 26 cas positifs ;

— 4 cas faux négatifs ;

— 1 cas faux positif.

Pour 22 liquides péritonéaux, il obtient :

— 18 cas positifs ;

— 8 cas négatifs ;

— 1 cas faux négatif.

SPRIGGS, en 1957, publie une étude portant sur 103 liquides pleuraux et ascitiques. Il obtient 71 % de cas positifs et 29 % de faux négatifs.

NAYLOR et SCHMIDT, en 1964, obtiennent, sur 935 liquides d'épanchement prélevés chez 634 malades, 54 % seulement de cas positifs. Ils soulignent la difficulté de desquamation des cellules cancéreuses dans les épanchements ascitiques qui proviennent, selon eux, très souvent d'un obstacle sur la circulation de retour sans que le processus tumoral soit en relation directe avec cette cavité péritonéale.

SABIONNI, en 1960, sur 33 ascites, obtient 13 liquides positifs, c'est-à-dire renfermant des cellules carcinomateuses et 20 cas négatifs.

VIGNAUD, en 1960, dans sa thèse de doctorat en médecine, publie l'étude de 56 cas d'ascite. Il trouve, sur frottis secs, pratiqués à partir du culot de centrifugation et colorés par la méthode du *May-Grunwald-Giemsa* 24 liquides renfermant des cellules cancéreuses. Pour cet auteur, seule la mitose atypique est pathognomonique de malignité. La positivité du cytodiagnostic confirme la teinte primitive ou métastatique de la séreuse péritonéale. Elle s'associe aux caractères exudatifs du liquide. Dans 86 pour 100 des exudats néoplasiques intra-péritonéaux, il obtient un cyto-diagnostic positif.

JOHNSON, en 1966, publie un important travail sur le diagnostic cytologique du cancer dans les épanchements des séreuses. Il présente un travail concernant 1.160 épanchements pleuraux péritonéaux et péricardiques. Au cours de cette étude, il n'a jamais obtenu de faux positifs. Par contre, dans 42 % des cas il aboutit à un diagnostic faussement négatif. Il souligne la grande variabilité morphologique qui, d'après lui, est responsable de la difficulté d'un diagnostic précis de la tumeur primitive qui est à l'origine de la métastase péritonéale.

De même, LOPEZ CARDOZO, au cours d'une étude portant sur 3.000 prélèvements pleuraux, ascitiques ou péritonéaux souligne la difficulté de préciser l'origine de la tumeur responsable de l'épanchement en question.

Ces différents résultats montrent la difficulté du cytodiagnostic sur les liquides ascitiques, en particulier dans le domaine des résultats faux négatifs qui s'avèrent relativement nombreux.

Pour notre part, sur les 365 liquides d'ascite examinés, nous avons 51 cas faussement négatifs, soit 13,9 % Il s'agissait de malades qui présentaient un processus carcinomateux ayant abouti à la formation d'un épanchement dans la cavité péritonéale.

Alors que, dans la plupart des diagnostics cytologiques en vue de la recherche des cellules carcinomateuses, ce pourcentage de faux négatifs est relativement faible, à l'exception des expectorations, nous nous trouvons, pour les ascites, en présence d'un pourcentage de faux négatifs élevé Est-il possible de trouver une explication à ce phénomène ?

En premier lieu, lorsqu'il s'agit d'une métastase hépatique, aboutissant à une compression de la circulation veineuse de retour, ou lorsqu'il s'agit d'une compression de la veine porte par une tumeur sans relation directe avec la cavité péritonéale, il est logique de penser que le liquide d'ascite sera dépourvu de cellules carcinomateuses. Il en est de même dans les stades terminaux d'un processus carcinomateux généralisé où, là aussi, le liquide d'ascite pourra, par compression médiastinale ou abdominale haute aboutir à une stase vasculaire et à une transudation au niveau de la cavité péritonéale.

Il n'en est pas de même, en particulier dans les cas de cancer de l'ovaire qui, logiquement, devrait avoir essaimé dans la cavité péritonéale. Ce type de tumeur pourrait

entraîner un épanchement réactionnel et il serait logique de trouver des cellules cancéreuses dans ce liquide d'ascite. Or dans les relevés des cas classés P 2 correspondant donc à des faux négatifs, nous avons la surprise de trouver sur 51 cas, 12 carcinomes ovariens pour lesquels il n'a pas été possible de mettre en évidence des cellules carcinomateuses dans le liquide d'ascite. S'il est logique de ne pas découvrir d'éléments dysplasiques par suite des altérations cellulaires qui ne permettent pas une identification définitive dans les leucémies myéloïdes, dans les lymphosarcomes lymphoblastiques ou dans les lympho-granulomatoses malignes, il est difficilement concevable qu'un carcinome ovarien en rapport direct avec la cavité péritonéale ne donne pas de cellules carcinomateuses au niveau des culots de centrifugation. Dans les cas bien connus de cancers de l'ovaire, cliniquement et préalablement diagnostiqués, toutes les techniques que nous avons utilisées pour 6 cas n'ont pas permis, même sur filtres millipores, de retrouver des cellules carcinomateuses. Or, ces liquides étaient indubitablement hémorragiques et auraient dû correspondre à une classe P 5.

Il existe donc dans ces cas un processus probablement de lyse cellulaire ou de non-mobilisation des cellules cancéreuses ovariennes qui méritent l'objet d'une étude plus précise.

Dans notre classification, nous avons obtenu 5 résultats faux positifs classés P 4 ou P 5 qui correspondaient à des liquides d'ascite prélevés chez des malades, authentiquement dépourvus de tout processus carcinomateux. C'est l'évolution ultérieure qui a permis de préciser qu'il s'agissait d'une erreur du diagnostic cytologique.

Ainsi que nous l'avons indiqué dans nos résultats, il s'agissait, dans 1 cas, d'une réaction péritonéale en relation avec une pancréatite aiguë. Dans ce cas nous nous sommes trouvés en présence de volumineux placards de cellules de grand diamètre allant jusqu'à 40 microns, à cytoplasme

vacuolisé souvent occupé par une seule et volumineuse enclave, à noyau irrégulier riche en chromatine, repoussé à la périphérie de la cellule au contact de la membrane cytoplasmique. Ces placards cellulaires, très nombreux, comprenant jusqu'à 50 éléments, ont été pris à tort pour un carcinome d'origine digestive et plus particulièrement d'origine gastrique.

Dans deux cas, l'ascite était en relation avec une cirrhose d'origine éthylique. Ici, de même, il s'agissait de microplacards formés d'une vingtaine d'éléments correspondant à des cellules de grand diamètre, mais le cytoplasme, très clair, était occupé par des enclaves de diamètres relativement réduit, tassées les unes contre les autres, au nombre d'une dizaine par élément cellulaire. Ces placards ont évoqué pour nous un carcinome à cellule claire du rein, et, bien entendu, l'évolution ultérieure et les contrôles biologiques et radiographiques ont montré qu'il s'agissait de 2 cas faussement positifs.

Dans 2 cas enfin, l'ascite représentait un épiphénomène au cours d'un anarsaque. Les éléments cellulaires étaient pratiquement identiques au cas précédent. Compte tenu du fait qu'il s'agissait de prélèvements effectués chez un homme et compe tenu de l'hyper-chromaticité des noyaux qui conservaient cependant un contour parfaitement régulier, nous avons évoqué un envahissement péritonéal à partir d'un épithélioma glandulaire prostatique. Dans ces 2 cas, de même, les examens cliniques et l'évolution ont démontré la fausseté du diagnostic cytologique.

Si nous comparons le nombre et le pourcentage des cas faussement négatifs des auteurs qui ont étudié ce problème, nous constatons que ce pourcentage va de 5 à 30 %

En ce qui concerne les cas faux positifs, les chiffres oscillent et correspondent à un pourcentage de 5 à 42 % suivant les auteurs.

2°) Intérêt du cyto-diagnostic sur liquide d'ascite :

Cette méthode est donc fidèle en ce qui concerne les cas faux positifs puisque leur pourcentage ne dépasse pas 1,5 %. Nous avons vu que le nombre des faux négatifs était par contre relativement élevé. Dans le chapitre précédent, nous avons précisé qu'il ne s'agissait pas d'un défaut de la technique cytologique. En effet la négativité du diagnostic cytologique est due à l'absence de rapport anatomique direct avec la cavité péritonéale.

En pratique courante, le cyto-diagnostic sur liquide d'ascite est un moyen rapide et relativement simple pour un laboratoire spécialisé. Qu'il s'agisse d'étalement sur lame selon PAPANICOLAOU ou de collection des cellules sur filtre millipore, l'examen cytologique est effectué très rapidement Dans de rares cas, le liquide renferme des grumeaux volumineux qui nécessitent l'inclusion et la coupe du sédiment préconisées par WHIMAN. Cette technique ne permettra une réponse que 24 heures après la réception du prélèvement.

Le but essentiel de l'étude cytologique est donc d'infirmer ou de confirmer la nature tumorale maligne de l'épanchement.

De plus cette étude permet de préciser, lorsqu'il s'agit de cellules carcinomateuses si ces dernières répondent à une tumeur primitive du péritoine ou à une tumeur secondaire métastatique.

Les résultats positifs sont globalement de l'ordre de 60 % et il s'agit presque toujours d'un processus métastatique.

Cette technique permet, en outre assez souvent, de préciser le type histologique de la tumeur d'origine et parfois d'en diagnostiquer la localisation

— Dans 22 % des cas, nous n'avons pu que répondre classe P 5 sans autre indication.

— Dans 41 % des cas, nous avons trouvé des cellules carcinomateuses dans le liquide d'ascite mais nous n'avons pu préciser le type histologique de la tumeur primitive.

— Dans 28 % des cas les cellules desquamées ont présenté une sutructure particulière qui a permis d'orienter les recherches biologiques et cliniques

C'est ainsi que les placards sphériques de cellules polyédriques avec anisonucléose discrète, dysplasies chromatiniennes modérées et mitoses peu nombreuses ont évoqué une origine mammaire de la tumeur primitive.

Les cellules à vacuole volumineuse aboutissant à l'image typique en chaton de bague ont répondu dans la majorité des cas à un cancer secrétant de type mucoïde d'origine digestive, le plus souvent gastrique.

Les placards de cellules à noyau irrégulier plus ou moins allongé entouré par un cytoplasme homogène acidophile ont répondu à un point de départ épithéliomateux soit épidermoïde soit malpighien cutané.

— Dans 9 % des cas, nous avons pu avancer presque avec certitude le point de départ de tumeur métastatique — ou du moins son type histologique précis — Il en a été ainsi pour les lymphosarcomes, les épithéliomas à cellules claires du rein et quelques épithéliomas germinatifs ovariens.

V

Conclusion

L'examen du liquide d'ascite est entré à juste titre dans la pratique courante du cyto-diagnostic.

L'étude cytologique selon PAPANICOLAOU ou après inclusion du culot permettra de préciser s'il s'agit d'un épanchement bénin ou d'une ascite carcinomateuse.

Le cyto-diagnostic dans nos statistiques fournit des résultats excellents : en effet le nombre de faux positif ne dépasse pas : 1,3 %. Par contre les faux négatifs atteignent 13,9 %, mais nous avons vu les causes anatomiques et mécaniques qui sont responsables de ce chiffre.

Il n'est cependant pas toujours possible au cytologiste de préciser la forme histologique ou l'organe dans lequel s'est développé le carcinome primitif.

L'étude histochimique, peut alors apporter des arguments. Ainsi, KOOS met en évidence la phostatase acide au niveau des cellules carcinomateuses recueillies dans l'ascite de sujets atteints d'un cancer prostatique.

La cytochimie, complétant l'étude cytologique, pourrait donc représenter, dans les années à venir, un moyen d'augmenter le pourcentage des résultats exacts en ce qui concerne la tumeur primitive responsable de l'ascite.

LE DOYEN,

G. LAZORTHES

LE PRÉSIDENT DE THÈSE,

C. BIMES

VU ET PERMIS D'IMPRIMER : N° 103

TOULOUSE, LE 12 JUIN 1969

LE RECTEUR, PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ,

G. RICHARD

Imprim. LACRAMPE, Lourdes — Dépôt légal — 2me trimestre 1969

BIBLIOGRAPHIE

BAHREMBERG : cité par Zemansky.

BURROW (S.), CARPENTIER (E.), WARREN (L. S.) : Centrifuged coverglass method for cytologic study of boby fluids.

Acta Cytologica 1968 — **12 - 404, 405.**

CEELEN (G. H.) : The cytologic diagnosis of ascitic fluid.

Acta cytologica E. U. 1964 — **8 - 175 - 85.**

DE BRUX (J. A.), DURE-FROMENT (J.), MINTZ (M.) : Cytology of the peritoneal fluids sampled by cœlioscopy or by cul de sac puncture. Its value in gynecology.

Acta cytologica 1968 — **12 - 395 - 403.**

FLOYD (N. S.), GOODMAN (G. H.), MANDELL (A.), WILSON. (Wayne State Univ. Sch. Med. Detroit, Mich).

Pour le diagnostic des cancers abdominaux.

Cul de sac peritoneal lavage for cytologycal study. Experience at Sinai hospital of Detroit Bull. Sinai Hospital Detroit 1968 — **16** - n° **1 - 5 - 6.** bibl. (12 réf.).

FOOT (N. C.) : The identification of tumor cells in sediments of serous effusions.

Amer. J. Path. 1937 — **13 - 1.**

FOOT (N. C.)

Am. J. Path. 1954 — **30 - 661.**
Am. J. Path. 1956 — **32 - 961.**
Am. J. Path. 1956 — **32 - 978.**

GUTTMAN (P. H.) and HALPERN (S.) : Nuclear nucleolar volume ratio in cancer.

Amer. J. Cancer 1935 — **25 - 802.**

PIERSON (B.), LAMY (P.), ANTMOINE (D.), REBEIX (G.) : Cytologie des pleurésies hémorragiques.

Poumon et Cœur Fr. 1966 — **22 - 77 - 78.**

QUENSEL (U.) : Zur Frage des Cytodiagnostik der Ergüsse seröser Hohlen. Melhodologische und Pathologisch anatomische Bermerkungen.

Acta. med. Scand 1928 — **68 - 427.**

QUENSEL (U.) : Cytologische Unersuchungen von Ergüssen der Brust und Banchhöhlen mit besonderer Berücksichtigung der carcinomatôsen Exsudate.

Acta med. Scand. 1928 — **68 - 458.**

QUINCKE : cité par Zemansky.

SABBIONI (G.) : La cytologia esfogliativa dei liquidi di versamenta e degli escreati nella diagnostica delle neoplasie maligne.
Giorn. Clin. Med. 1960 — **41 - 684.**

SAPHIR (O.) : Cytologie diagnosis of cancer from pleural and peritoneal fluid.

Amer. J. Clin. Path: 1949 — **19 - 309.**

SATTENSPIEL (E.) : Diagnostic histologique du cancer à partir des résultats et transsudats ; valeur comparée de la méthode de Papanicolaou et de la technique de l'inclusion en paraffine.
Surg. Gynec. Obstet. 1949 — **89 - 478.**

SMOLKA (H.), SOOST (H. J.) : Cytodiagnostic en gynécologie.
Masson et Cie Edit. 1965 — **209 p.**

HINSELMANN (H.) : Punkton und Spulung des Douglsraumes **Geburtsh.**

JOHNSON (W. D.) : The cytological diagnosis of cancer in serous effusions.

Acta Cytologica EU.

KOSS (L. G.) and DURFREE (G. R.) : Diagnostic Cytology and its Histo Pathologic Bases.

J. B. Lippincott Co Philadelphia.

LOPEZ CARDOZO (P.), (Med. Univ. Clin, Leyden).
A critical evaluation of 3,00 cytologic analysis of pleural fluid, ascitic fluid and pericardial fluid.

Acta cytol., E. U. (1966 paru 1967), **10,** n° 6, **455 - 60.**

MAC CARTHY (N. C.) : The malignant cell.
J. cancer Res 1929 — **13 - 167.**

MASON (M. K.) : 1958-1961.

NAYLOR (B.) et SCHMIDT (R. W.) : Lancet 1964 — **1 - 711.**

ORELLANA, VALDIVIA-BARRIGA (V.), FELDMAN (A.) : Needle biopsy of the peritoneun.

Amer. J. digest. Dis 1964 — **9 - 145.**

PAGES (A.) : Le cyto-diagnostic dans les épanchements des séreuses.

Pathologie et biologie 1958 — **6 - 253 - 257.**

PAPANICOLAOU (G. N.) : Diagnostic value of exfoliated cells from cancerons tissues.

J.A.M.A. 1946 — **131, 372.**

SPRIGGS (A. I.) : The cytology of Effusions 1957 — **13.**

VIGNEAU (R.) : Contribution à l'étude du cyto-diagnostic dans les ascites.

Thèse Doct. Med. - Paris 1960 ed. AGEMP.

WIDAL (G.) : Presse Méd. 1901 — **9 - 189.**

WRIGLEY (C. H.) 1964.

PROFESSEURS SANS CHAIRE :

Anatomie : M. BASTIDE ;
Anesthésiologie : M. LARENG ;
Biochimie médicale : M. VALDIGUIE Pierre ;
Chirurgie générale : M. GEDEON ;
Chirurgie générale : M. SARRAZIN
Electro-radiologie : M. PONS ;
Hématologie : M. DUCOS ;
Histologie et embryologie : M. GUILHEM ;
Ophtalmologie : M. DEODATI ;
Physiologie : M. BESSOU ;
Physique médicale : M. COMMANAY ;
Pneumo-phtisiologie : M. MIGUERES.

MAITRES DE CONFÉRENCES AGRÉGÉS :

Anatomie pathologique : M. FABRE Jean ;
Bactériologie, Parasitologie, Virologie : Mme LARENG ;
Carcinologie : M. ESTRADE ;
Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire : M. ESCHAPASSE ;
Electro-radiologie : M. ROULLEAU
Médecine générale et thérapeutique: M. BES ;
Médecine générale et thérapeutique: M. BOLLINELLI ;
Médecine générale et thérapeutique: M. SUC ;
Pathologie expérimentale: M. GLEIZES ;
Pédiatrie : M. DALOUS ;
Pédiatrie : M. REGNIER ;
Neuro-chirurgie : M. ESPAGNO Jacques ;
Médecine générale : M. ARLET Jacques.

AGRÉGÉS :

Médecine générale : M. CALAZEL ;
Médecine générale : M. RASCOL ;
Médecine générale: M. LE TALLEC
Médecine générale : M. RIBET ;
Chirurgie générale : M. FICAT ;
Chirurgie générale : M. GAUBERT;
Dermato et syphiligraphie : M. DUPRE ;
Hydrologie : M. DENARD ;
Médecine légale : M. GREZES-RUEFF ;
Neurologie et psychiatrie : M. GAYRAL ;
Obstétrique : M. ESPAGNO Guy ;
Ophtalmologie : M. BEC.

AGRÉGÉS LIBRES :

Chirurgie générale : M. SOUQUET;
Pathologie chirurgicale : M. DIEULAFE ;

SECTION PHARMACIE

Botanique et cryptogamie : Mme DULUCQ-MATHOU ;
Chimie analytique : M. PITET ;
Chimie analytique, toxicologie et hygiène industrielle : M. BOURBON .
Chimie pharmaceutique: M. BLANC
Microbiologie : M. BREUILLAUD ;
Pharmacie chimique et phamacodynamie : M. CAUJOLLE ;
Pharmacie galénique et matière médicale : M. STANISLAS ;
Physiologie, zoologie et parasitologie pharmaceutique : M. ROUX ;

PROFESSEURS A TITRE PERSONNEL :

Pharmacie : M. COUTURIER ;
Sciences naturelles : Mme CAUJOLLE.

PROFESSEUR SANS CHAIRE :

Toxicologie : M. BROUSSY Georges

MAITRES DE CONFÉRENCES AGRÉGÉS :

Botanique : Mme LASCOMBES ;
Chimie organique : M. BERTRAND;
Zoologie : M. GAYREL.

PERSONNEL ADMINISTRATIF :

Secrétaire Principal : M. ROCHE.

La Faculté déclare n'être pas responsable des opinions émises par les candidats (délibération en date du 12 Mai 1891.)